

## Клетки ТМ3 | 305167

## Обща информация

**Description** Клетките ТМ3 са уникална клетъчна линия, получена от 11-13-дневни мъжки клетки на Лейдиг на мишки, която има адхезивни свойства на растеж. Тези клетки не са туморогенни, тъй като не предизвикват тумори при имunosупресирани мишки, въпреки че могат да образуват колонии в полутвърда среда. Те експресират гена за простагландин F2a и се характеризират с няколко маркера за експресия, включително лутеинизиращ хормон (LH), епидермален растежен фактор (EGF) и положителни маркери за андрогенни, естрогенни и прогестеронови рецептори. Забележителна характеристика на клетките ТМ3 е техният отговор на LH, който води до увеличаване на производството на cAMP; те обаче не реагират на фоликулостимулиращия хормон (FSH). Поддържането на реактивността на LH зависи от количеството серум. Освен това в присъствието на LH тези клетки могат да метаболизират холестерол. Те са тествани и е установено, че са отрицателни за вируса на екстремелия (миша едра шарка), което гарантира висок стандарт на безопасност за лабораторна употреба

**Organism** Мишка

**Tissue** Тестис

**Disease** Нормални лейдигови клетки на тестисите (нетуморогенни; мишка от линията BALB/c)

**Metastatic site** Неприложимо (нормална, нетуморогенна клетъчна линия от тестисите)

**Applications** Биология на лейдиговите клетки; стероидогенеза в тестисите; LH/cAMP сигнализация; изследвания на рецепторите за андрогени, естрогени и прогестерон; реакция към гонадотропини; метаболизъм на холестерола; изследвания на развитието и функционирането на тестисите

**Synonyms** ТМ-3

## Характеристики

**Breed/Subspecies** BALB/c

**Age** 11 до 13 дни

**Gender** Мъжки

**Morphology** Епителиален

**Cell type** Клетки на Лайдиг

**Growth properties** Придържащи се

## Клетки TM3 | 305167

## Регулаторни данни

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| <b>Citation</b>             | TM3 (каталожен номер 305167 на Cytion)   |
| <b>Biosafety level</b>      | 1  |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 10090  |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_4326  |
| <b>GMO Status</b>           | Без генетична модификация; клетъчна линия от лейдигови клетки на мишки от див тип, получена чрез първична култура от тестисите на новородени мишки от линията BALB/c |

## Биомолекулярни данни

## Работа с

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| <b>Culture Medium</b>       | DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (номер на изделието на Cytion 820400a)   |
| <b>Supplements</b>          | Допълнете средата с 2,5% FBS, 5% конски серум   |
| <b>Dissociation Reagent</b> | Accutase  |
| <b>Doubling time</b>        | приблизително 36 до 48 часа   |
| <b>Subculturing</b>         | Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда. |
| <b>Split ratio</b>          | от 1 до 3   |
| <b>Seeding density</b>      | от 1 до 3 × 10 <sup>4</sup> клетки/см <sup>2</sup>  |
| <b>Fluid renewal</b>        | 2 до 3 пъти седмично  |

## Клетки TM3 | 305167

**Post-Thaw Recovery**

След размразяване разпределете клетките в култура с плътност  $5 \times 10^4$  клетки/см<sup>2</sup> и изчакайте поне 24–48 часа за прилепване, преди да извършите първата смяна на средата. Поддържайте зависимостта на LH-чувствителността от партидата на серума, като проверявате всяка партида FBS за реакцията на cAMP към LH.

**Freeze medium**

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

## Клетки ТМ3 | 305167

**Flask Coating** Няма

### Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базиран анализ, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.